第40卷 第1期　　昆 虫 学 报　　Vol. 40, No. 1
1997年2月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Feb., 1997

保幼激素类似物对家蚕丝腺与脂肪体蛋白质合成的调节作用

戴玉锦　　金琇珏
（苏州铁道师范学院生物系　苏州　215009）（苏州蚕桑专科学校　苏州　215151）

摘要　应用示踪原子法，研究了家蚕 *Bombyx mori* 5龄幼虫丝腺与脂肪体细胞内蛋白质合成的变化规律及保幼激素类似物（JHA738）的调节作用。从5龄初到龄末，家蚕丝腺细胞内蛋白质合成持续升高，5龄中期、后期的蛋白质合成活性分别是前期的1.60倍和2.86倍；全龄出现2个合成高峰，一个是在5龄72 h，为细胞固有蛋白质合成高峰，另一个是在5龄192 h，为丝蛋白合成高峰。脂肪体细胞内蛋白质合成作用呈现脉冲式的变化。在5龄前期和中期用JHA处理家蚕（剂量为4 μg/条），对丝腺细胞固有蛋白质合成和脂肪体细胞蛋白质合成均表现出抑制作用，而对丝蛋白合成则表现出促进作用。本实验结果为进一步阐明JHA增丝机理提供了直接证据。

关键词　家蚕，丝腺，脂肪体，蛋白质合成，保幼激素类似物

家蚕（*Bombyx mori*）的生长发育，直接受到由咽侧体分泌的保幼激素（JH）和前胸腺分泌的蜕皮激素（MH）的调节控制。关于这两类主要昆虫激素的化学性质、生理作用以及在蚕体内的周期性变化，都已经阐明[1]。在此基础上，应用人工合成JHA和植源性MH调节家蚕生长发育、增产蚕丝的研究，也已取得了很大的进展[2]。对外源激素如何调节家蚕的生长发育、促进丝蛋白合成的机理的阐明，不仅可为生产上合理使用激素制剂提供科学依据，而且也可为深入了解昆虫内源激素的作用机制积累资料。JHA作用机理的研究已有多方面的报道[3~10]，还研究了离体丝腺对JHA的反应[11,12]。无论体内实验还是体外实验的研究结果都证明，家蚕的丝腺和脂肪体是JHA作用的主要靶器官；在5龄不同时期用适量JHA处理对上述器官组织细胞的物质代谢产生某种调节作用。然而，JHA的增丝机理仍有许多不明之处，在学术界依然存在着不同的观点。为此，我们应用示踪原子法，研究了5龄前期（24 h）和中期（96 h）JHA处理家蚕（4 μg/条），对丝腺细胞和脂肪体细胞内蛋白质合成的调节作用。现将研究结果报告如下。

1　材料和方法

1.1　供试蚕品种

苏$_5$×苏$_6$，全部用5龄雄蚕作材料。

1994-12-19 收稿，1995-04-20 收修改稿

1.2 试剂

1.2.1 激素制剂：JHA738浓度为30 mg/mL，由浙江海宁农药厂提供。
1.2.2 标记化合物：溶解于2%乙醇的^{3}H-Gly，放射性比强度为9 Ci/mmol，放射性浓度为1 mCi/mL，由中国科学院上海原子核研究所提供。
1.2.3 闪烁液：用二甲苯配制的0.4% 2，5-二苯基噁唑—0.04% 1，4-双-[5-苯基噁唑-2] 苯溶液。闪烁液及测试所用的液闪仪均由苏州医学院放射医学系提供。

1.3 激素处理

在5龄1 d (24 h) 和4 d (96 h) 分别对家蚕幼虫体表涂布JHA738，剂量为4 μg/条；另设仅涂布清水的对照区。各区蚕儿均在室温下用桑叶按常规饲育。

1.4 标记物掺入试验

JHA738处理后，每隔24 h进行^{3}H-Gly掺入试验。对照区蚕除5龄1 d (24 h) 外，其余龄日与处理区蚕同时进行。具体步骤按作者等已发表的方法[14]。蛋白质样品的放射性用每分钟计数 (cpm) 表求。

1.5 蛋白质合成活性的测定

丝腺蛋白质合成活性用^{3}H-Gly掺入体内30 min后，每条蚕丝腺蛋白质的放射性表示，即cpm/(条·30 min)；脂肪体蛋白质合成活性以每100 mg组织 (鲜重) 蛋白质的放射性表示，即cpm/ (100 mg·30 min)。各区每次取3～5条蚕供掺入试验，以几个测定值的平均数作为结果数据。

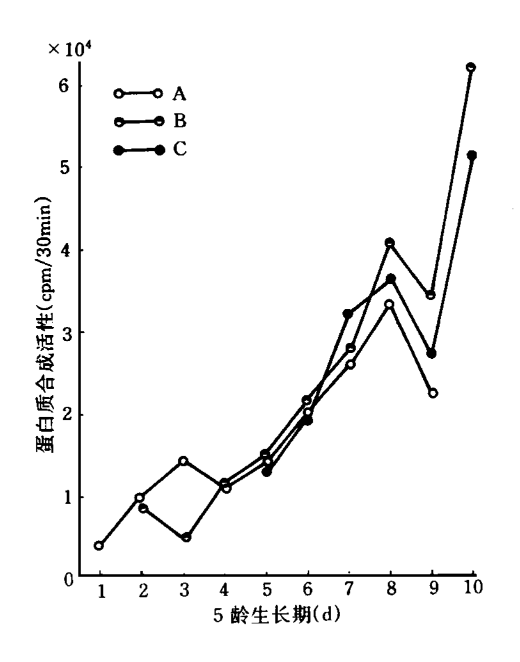


图1 JHA对家蚕5龄幼虫丝腺蛋白质合成的调节作用

A：对照区；B：JHA前期处理 (4 μg/条) 区；C：JHA中期处理 (4 μg/条) 区

2 实验结果

2.1 5龄期间家蚕丝腺蛋白质合成的变化规律及JHA的调节作用

对照区的研究结果(图1)表明，家蚕丝腺细胞在5龄期间蛋白质合成极为旺盛：从龄初开始逐日升高，3 d(72 h)出现一个高峰，接着在4 d(96 h)出现一个低值，随后呈直线上升趋势，8 d(192 h)达到第2个高峰，9 d (216 h)即熟蚕时下降。若以5龄前期(1～3 d)作为基数，则5龄中期 (4～6 d) 和后期 (7～9 d) 丝腺细胞的蛋白质合成活性分别提高了60%和186% (图2)。可见，家蚕丝腺细胞内蛋白质合成在5龄不同时期的变化非

常之大。

处理区的研究结果（图1）显示，JHA处理后的最初48 h内，家蚕丝腺细胞的蛋白质合成受到了一定程度的抑制，其中尤以JHA 5龄前期处理区的抑制作用最为显著，蛋白质合成活性平均仅为对照区的60%。但此后时间里，JHA对丝腺细胞的蛋白质合成转变为促进作用，特别到5龄后期这种促进作用表现为极显著。5龄8 d（192 h）JHA前期处理区和中期处理区的蛋白质合成活性分别比对照区提高了22%和11%。值得注意的是，JHA处理延长了家蚕的幼虫期。在本试验中，JHA前期处理和中期处理的5龄幼虫经过，分别比对照延长了36 h和48 h。在图1中仅显示了JHA处理比对照龄期经延长1 d（5龄10 d），此时处理区蚕尚未老熟，其丝腺细胞蛋白质合成仍处于旺盛状态，达到的新的高峰值远远超过了5龄8 d的合成高峰。再从丝腺细胞蛋白质合成活性比较，JHA5龄前、中期处理分别比对照提高了48%和54%（图3）。

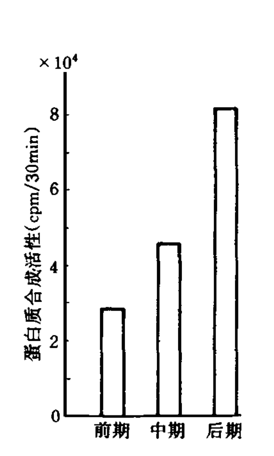


图2　5龄不同生长时期家蚕丝腺蛋白质合成活性的比较（未经JHA处理）

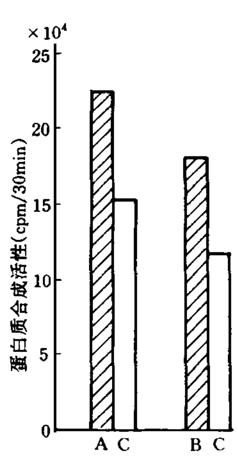


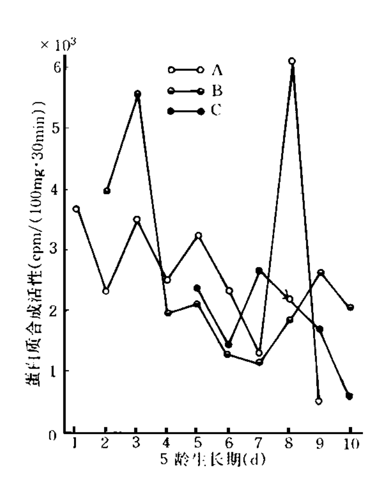
图3　JHA5龄不同生长时间处理对家蚕丝腺蛋白质合成活性的影响
A：JHA5龄前期处理（4μg/条）区；B：JHA5龄中期处理（4μg/条）区；C：对照区

2.2　5龄期间家蚕脂肪体蛋白质合成的变化规律及JHA的调节作用

研究结果（图4）表明，家蚕脂肪体细胞内蛋白质合成在5龄期间呈现脉冲式的变化，从龄初到龄末出现多个^{3}H-Gly掺入峰值，熟前一日（8 d）达到最大值，熟蚕（9 d）时急速降低；JHA前、中期处理后，脂肪体细胞内蛋白质合成的变化规律与对照相似，其中JHA前期处理的第1个^{3}H-Gly掺入峰值虽然高于对照，但随后的2个掺入峰值均低于对照，即使加上延长一日（10 d）的^{3}H-Gly掺入值，但蛋白质合成活性也仅为对照的90%；JHA中期处理的^{3}H-Gly掺入峰在多数龄日里均低于对照，即使加上延长一日的掺入值，蛋白质合成活性也仅为对照的81%。这些结果说明，JHA 5龄前、中期处理均显著抑制了脂肪体细胞的蛋白质合成（图5）

3　讨论

家蚕体内的一对丝腺，在胚胎期已完成了细胞分裂与分化，到幼虫期不断生长。但直至4龄期，丝腺细胞仍然细小。到了5龄期经过极度生长，丝腺细胞才显著增大，并于龄末大量分泌丝蛋白[5,13]。因此，5龄幼虫期既是丝腺细胞的迅速生长期，又是其分泌机能的活跃期。在此期间，丝腺细胞内必然进行着旺盛的蛋白质合成。我们过去的研究证明，家蚕丝腺在5龄前期尚处于以合成细胞固有蛋白质为主的生长发育期，而在中、后



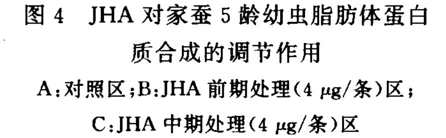


图 4　JHA 对家蚕 5 龄幼虫脂肪体蛋白质合成的调节作用

A:对照区;B:JHA 前期处理(4 μg/条)区;C:JHA 中期处理(4 μg/条)区

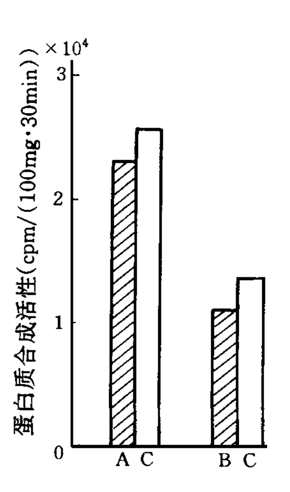


图 5　JHA 5 龄不同时期处理对家蚕脂肪体蛋白质合成活性的影响

A:JHA 5 龄前期处理(4 μg/条)区;B:JHA 5 龄中期处理(4 μg/条)区;C:对照区

期进入大量合成细胞分泌蛋白（丝蛋白）为特征的成熟发展期[14,15]。从本实验结果看，以单位时间内^{3}H-Gly 掺入值（cpm/（条·30 min））为指标，对照区家蚕丝腺细胞的蛋白质合成在 5 龄期间出现 2 个高峰，一个是在 5 龄前期的 3 d(72 h),另一个是在 5 龄后期的 8 d(192 h)。可以认为，前一个反映了细胞固有蛋白质的合成高峰，而后一个则代表了丝蛋白的合成高峰。

5 龄前、中期给家蚕体表喷洒适量 JHA，具有明显的延长龄期、增产蚕丝的效果。不但已有许多试验报道，而且也为生产实践所证实[16]。然而，关于 JHA 的增丝机理，在学术界仍有不同的观点。一些学者根据 JHA 处理后，蚕的生长发育及丝腺细胞内 RNA 合成、转氨酶活性等生化指标在最初的一段时间内均有被抑制的现象，认为 JHA 对家蚕包括丝蛋白合成在内的物质合成代谢都起抑制作用；JHA 的增丝效果只是由于延长了龄期、多吃桑叶的结果，并非对丝蛋白合成有直接的促进作用[12,17]。作者等过去也持同样的观点[18]。然而，本实验结果却未能支持这种观点。在本实验中，虽然观察到 JHA 前、中期处理对脂肪体细胞蛋白质合成均有明显的抑制作用，对丝腺细胞蛋白质合成在最初的48 h内也出现了抑制作用(特别在 JHA 前期处理更为强烈)，但细心研究分析就会发现：JHA 对丝腺细胞蛋白质合成明显的抑制作用，主要表现在 5 龄前期，而此时丝腺细胞内主要进行固有蛋白质的生物合成；丝蛋白的大量合成主要发生在 5 龄后期，恰恰此时 JHA 表现出极显著的促进作用（图 1)。再从 JHA 处理区与对照区丝腺细胞蛋白质合成活性比较来看，JHA 的促进作用也是明显的(图 3)。这些都说明，JHA 的增丝效果不仅由于延长了幼虫期（即延长了丝蛋白合成的时间)，而且也由于直接促进了丝蛋白的合成作用。如果分析一下 JHA 处理后对家蚕丝腺细胞内 RNA 合成、转氨酶活性等生化指标的影响，也会发现有类似的先抑后扬的特点。可见，本实验结果揭示的 JHA 对家蚕丝

腺蛋白质合成先抑后扬的调节特点决非偶然，很可能是一种客观规律。然而，外源 JHA 进入蚕体后，究竟以怎样的方式作用于丝腺、脂肪体等组织细胞，从而产生出不同的调节作用，尚待从分子生物学水平上深入探究。

参 考 文 献

1 朱江，沈卫德，戴玉锦．家蚕生理生化研究专集．苏州：江苏省蚕桑学会丛书，1988，128

2 戴玉锦．昆虫激素和抗激素类在蚕业上的应用研究进展．昆虫知识，1994，**31**（3）：190～192

3 Akai H *et al*. Increased accumulation of silk protein accompanying JH-induced prolongation of larval life in *Bombyx mori*. L. Appl. Entomol. and Zool.，1971，**6**（4）：218～220

4 吴秋雁，胡召元，郭郛．昆虫保幼激素对家蚕丝腺中核酸代谢的效应．昆虫学报，1978，**21**（3）：290～295

5 郭郛，冯慧，吴秋雁等．家蚕丝蛋白的合成和保幼激素的调节．昆虫学报，1979，**22**（4）：369～379

6 许廷森，戴祝英，邹柏祥等．保幼激素类似物对家蚕氨基酸代谢一些酶的影响．蚕业科学，1979，**5**（4）：232～236

7 夏邦颖，郭郛．保幼激素类似物对家蚕后丝腺细胞中游离多核糖体的影响．科学通报，1980，**22**：1039～1041

8 林浩，戴祝英，邹柏祥等．昆虫激素调节控制的研究：保幼激素类似物对蚕合成甘氨酸和丙氨酸有关酶系的调节控制．生物化学与生物物理学报，1980，**12**（4）：321～327

9 许廷森，邹柏祥，林浩等．昆虫激素调节控制的研究：尿素循环问题和保幼激素类似物对精氨酸酶的调节控制．生物化学与生物物理学报，1980，**12**（4）：313～319

10 邹柏祥，林浩，庄大桓等．保幼激素类似物对家蚕后部丝腺细胞核糖核酸组分含量动态的影响．蚕业科学，1987，**13**（3）：158～163

11 Hajime Shigematsu. *In vitro* effect of juvennoid on the incorporation activity of labeled precursors into nucleic acids and protein under the incubation of the posterior silk gland of the silkworm，*Bombyx mori*. 日蚕雑，1982，**51**（1）：27～24

12 崔为正，吴载德，徐俊良．保幼激素和蜕皮激素对家蚕离体后部丝腺吸收核酸和蛋白质标记前体的影响．蚕业科学，1991，**17**（1）：39～44

13 黄君霆．丝蛋白分子生物学．合肥：安徽科学技术出版社，1989，5

14 戴玉锦，姚祥，夏红珍．蜕皮激素与丝蛋白合成：植源性蜕皮激素对家蚕丝腺蛋白质合成中^{3}H 标记甘氨酸参入活性的影响．昆虫学报，1987，**30**（3）：233～238

15 戴玉锦，朱江．20-羟蜕皮素对家蚕后部丝腺细胞超微结构的影响．昆虫学报，1990，**33**（4）：398～402

16 庄大桓，项美华，戴祝英等．昆虫保幼激素和蜕皮激素在家蚕不同发育阶段的生物活性效应．蚕业科学，1984，**10**（3）：139～144

17 諸星静次郎．蚕の発育生理．东京：东京大学出版会，1976，239

18 姚祥，戴玉锦，金琇珏．蜕皮激素对家蚕若干数量性状的影响、江苏蚕业，1988，**1**：9～14

REGULATION OF JUVENILE HORMONE ANALOGUE ON PROTEIN SYNNTHESIS IN THE SILKGLAND AND FAT BODY OF SILKWORM *BOMBYX MORI*

Dai Yujin
(*Suzhou Railway Teachers College Suzhou* 215009)
Jin xiujue
(*Suzhou Sericulture College Suzhou* 215151)

Abstract We have investigated the change of protein synthesis in the silkgland and fat body of the 5th instar larvae of *Bombyx mori* and the regulation of Juvenile hormone analogue (JHA738) by using the method of isotopic tracing. From the early to the late stages of the fifth instar larvae, protein synthesis in the silkgland cells of the silkworm continued to increase; the synthetic activities in the middle and late stages of fifth instar were 1.6 and 2.86 times higher than that in the early stage. Two peaksfor incorporotion of ^{3}H-glycine occurred during the fifth instar development, the first original peak occurred at 72 h after the 4th ecdysis and the second peak for silk protein synthesis occurred at 192 h after the fourth ecdysis. The protein synthesis in fat body cells displayed pulse like fluctuation. The treatment with JHA (4 μg larva) at the early and middle stages of the fifth instar larvae inhibited the protein synthesis originally in silkgland cells and fat body cells, but stimulated the incorporation of ^{3}H-glycine into the silk protein. The silk protein synthetic activities of JHA-injected fifth-instar-larvae were higher than those of the control animals.

Key words *Bombyx mori*, silkgland, fat body, protein synthesis, juvenile hormone analogue